

氏 名	鮑 大 鵬
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	甲第310号
学位授与年月日	平成15年 9月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学 位 論 文 題 目	Taxonomic and Molecular Phylogenic Studies on the Biological Species in the Genus <i>Pleurotus</i> (ヒラタケ属きのこの “biological species” に関する分類学および分子系統学的研究)
学位論文審査委員	(主査) 北 本 豊 (副査) 森 信 寛 滝 本 晃 一 柴 田 均 福 政 幸 隆

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

ヒラタケ属担子菌は全世界に分布する重要な食用きのこであり、これまでの形態による分類学的研究により数十種が報告されているが、それらの分類および進化について多くの疑念が未解決であり、交配および分子系統学的研究による生物種とそれらの家系学的関係の解明が求められている。本研究では、主にアジアから収集したヒラタケ属担子菌を用いて交配および分子系統学的手法による解析を行った。

主にアジアから収集したヒラタケ属菌株の交配互換性を試験した結果、形態学的種を異にする供試菌株が5交配型グループ (*P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. cornucopiae*, *P. cystidiosus* および *P. salmoneostramineus complexes*) と、7独立種 (*P. calyptratus*, *P. corticatus*, *P. dryinus*, *P. eryngii*, *P. nebrodensis*, *P. smithii*, and *P. ulmarius*) に分別された。*P. ostreatus complex* には、*P. ostreatus*, *P. ostreatus* var. *columbinus*, *P. djamor*, and *P. flabellatus* が属した。*P. pulmonarius complex* には7つの形態学的種、すなわち *P. pulmonarius*, *P. eugrammus*, *P. eugrammus* var. *brevisporus*, *P. sajorcaju*, *P. sapidus*, *P. sp. florida* および *P. opuntiae* が含まれた。*P. conucopiae complex* には亜種である *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* が含まれた。*P. cystidiosus complex* には *P. abalonus* が含まれた。*P. salmoneostramineus complex* には *P. salmoneotramineus*, *P. ostreatoroseus* および *P. rhodophyllus* が含まれた。交配試験の結果、ヒラタケ属の25種の形態学的種が12の生物種に同定された。

ヒラタケ属供試菌株の系統学的関係を調べるため、それらの26SrDNAの5末端の多型分析を行った。7種の制限酵素断片長多型の組み合わせによって、供試34菌株が11種類のRFLPタイプに分別され、そのうち10タイプはそれぞれの生物種に対応したが、一パターンは交配互換グループI (*P. ostreatus complex*)、II (*P. pulmonarius complex*) およびVIII (*P. eryngii*) に共通した。また、RFLPデータの系統樹から、ヒラタケ属の生物種は二つのパターンに進化したことが示唆された。第1の主クラスターは *P. ostreatus* クレード” を構成し、*P. ostreatus complex*, *P. pulmonarius complex*,

P. eryngii および *P. nebrodensis* に短く分枝し、これらが共通の祖先を有することが示唆された。しかし、RFLP データではこれらの生物種は分別できなかった。他の一つの主クラスターは、進化の初期段階で 5 つのサブレベル・クラスターに分かれ、進化の後期段階に末端ノード (*P. calyptratus-salmoneostramineus* クレード、*P. cornucopiae-ulmarius* クレード、*P. dryinus* クレード、*P. corticatus* クレードおよび” *P. cystidiosus-smithii* クレード”) に分別したと推論された。

上述の PCR-RFLP 分析で同一のパターンを示した *P. ostreatus complex*、*P. pulmonarius complex* および *P. eryngii* の系統学的関係の解析をするため、ミトコンドリアの SSU rDNA (mt SSU rDNA) の 5' 部分を PCR 増幅し、増幅断片の塩基配列を分析した。その結果、塩基配列の 189 番目~298 番目に V4 ドメインがあることが判明した。*P. ostreatus complex* のそれぞれの菌種の mt SSU rDNA の 5' 断片の配列の解析で、99.2-99.6%の相同性があった。一方、*P. pulmonarius complex* に含まれる種々の形態学的種の供試菌株はいずれも同一配列を示した。*P. ostreatus complex* と *P. pulmonarius complex* の V4 ドメインのホモロジーは 97.8-98.3%であった。これらの解析で、供試 17 菌株は 3 つの生物種 (*P. ostreatus complex*, *P. pulmonarius complex* および *P. eryngii*) に対応し、3 つの系統に進化したと推論された。また、系統樹におけるそれぞれの生物種の家系学的位置の比較から、*P. ostreatus complex* と *P. eryngii* は進化の後期段階で共通の祖先から発生したこと、この共通の祖先は進化の初期過程で *P. pulmonarius complex* と分枝したことが示唆された。

以上の研究により、ヒラタケ属きのこの新たな生物種の同定と分子系統学的知見が得られ、また生物種を分子レベルで同定する手段が確立された。

論文審査の結果の要旨

ヒラタケ属担子菌は全世界に分布する重要な食用きのこであり、これまでの形態による分類学的研究により数十種が報告されている。しかし、それらの分類および進化について多くの疑念が未解決であり、交配および分子系統学的研究による生物種とそれらの家系学的関係の解明が求められている。本研究では、主にアジアから収集したヒラタケ属担子菌を用いて交配および分子系統学的手法による解析を行った。

主にアジアから収集したヒラタケ属供試菌株の交配互換性を試験した結果、形態学的種を異にする 5 交配型グループ (*P. ostreatus*、*P. pulmonarius*、*P. cornucopiae*、*P. cystidiosus* および *P. salmoneostramineus complexes*) と、7 独立種 (*P. calyptratus*、*P. corticatus*、*P. dryinus*、*P. eryngii*、*P. nebrodensis*、*P. smithii* および *P. ulmarius*) に分別された。*P. ostreatus complex* には、*P. ostreatus*、*P. ostreatus var. columbinus*、*P. djamor* および *P. flabellatus* が属した。*P. pulmonarius complex* には 7 つの形態学的種、すなわち *P. pulmonarius*、*P. eugrammus*、*P. eugrammus var. brevisporus*、*P. sajor-caju*、*P. sapidus*、*P. sp.florida* および *P. opuntiae* が含まれた。*P. conucopiae complex* には亜種である *P. cornucopiae var. citrinopileatus* が含まれた。*P. cystidiosus complex* には *P. abalonus* が含まれた。*P. salmoneostramineus complex* には *P. salmoneotramineus*、*P. ostreatoroseus* および *P. rhodophyllus* が含まれた。交配試験の結果、ヒラタケ属の 25 種の形態学的種が 12 の生物種に同定された。

ヒラタケ属供試菌株の系統学的関係を調べるため、それらの 26S rDNA の 5' 末端の多型分析を行った。7 種の制限酵素断片長多型の組み合わせによって、供試 34 菌株が 11 種類の RFLP タイプに分

別され、そのうち 10 タイプはそれぞれの生物種に対応したが、1 パターンは交配互換グループ I (*P. ostreatus complex*)、II (*P. pulmonarius complex*) および VIⅢ (*P. eryngii*) で共通した。また、RFLP データの系統樹から、ヒラタケ属の生物種は二つのパターンにより進化したことが示唆された。第 1 の主クラスターは *P. ostreatus* クレード”を構成し、*P. ostreatus complex*、*P. pulmonarius complex*、*P. eryngii* および *P. nebrodensis* に短く分枝し、これらが共通の祖先を有することが示唆された。しかし、RFLP データでは、*P. nebrodensis* を除き、これらの生物種を相互に分別できなかった。他の一つの主クラスターは、進化の初期段階で 5 つのサブレベル・クラスターに分かれ、進化の後期段階に末端ノード (*P. calyptratus-salmoneost-ramineus* クレード、*P. cornucopiae-ulmarius* クレード、*P. dryinus* クレード、*P. corticatus* クレーレおよび” *P. cystidiosus-smithii* クレード) に進化の過程で分別したと推論された。

上述の PCR-RFLP 分析で同一のパターンを示した *P. ostreatus complex*、*P. pulmonarius complex* および *P. eryngii* の系統学的関係の解析するため、ミトコンドリアの SSU rDNA (mt SSU rDNA) の 5' 部分を PCR 増幅し、増幅断片の塩基配列を分析した。その結果、塩基配列の 189 番目~298 番目に V4 ドメインがあることが判明した。*P. ostreatus complex* のそれぞれの菌種の mt SSU rDNA の 5' 断片の配列解析で、99.2-99.6%の相同性があった。一方、*P. pulmonarius complex*に含まれる数種の系統学的種に属する供試菌株はいずれも同一配列を示した。*P. ostreatus complex* と *P. pulmonarius complex* の V4 ドメインのホモロジーは 97.8-98.3%であった。これらの解析で、供試 17 菌株は 3 つの生物種 (*P. ostreatus complex*、*P. pulmonarius complex* および *P. eryngii*) に対応し、3 つの系統に進化したと推論された。また、系統樹におけるそれぞれの生物種の家系学的比較から *P. ostreatus complex* と *P. eryngii* は進化の後期段階で共通の祖先から発生したこと、この共通の祖先は進化の初期過程において *P. pulmonarius complex* と分枝したことが示唆された。

本研究は、ヒラタケ属きのこの新たな生物種の交配技術による同定と分子系統学的知見を得たものであり、またヒラタケ属きのこの生物種を分子技術で同定する手段を確立したものであり、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。